



Sıçanlarda Karbon Tetraklorür ile Oluşturulan Oksidatif Beyin ve Böbrek Hasarına Karşı Ghrelinin Koruyucu Etkisi*

Ebru ÇETİN[✉], Nazmi ÇETİN

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri.

Özet: Bu çalışma, sıçanlarda karbon tetraklorür (CCl₄) ile oluşturulan oksidatif beyin ve böbrek hasarına karşı ghrelinin koruyucu etkisini incelemek amacıyla yapıldı. Toplam 40 adet erkek Sprague-Dawley ırkı sıçan kontrol, CCl₄, ghrel ve ghrel+CCl₄ olmak üzere dört eşit gruba ayrıldı. Son enjeksiyondan 24 saat sonra, sıçanlar sakrifiye edilerek beyin ve böbrek dokuları çıkarıldı. Doku homojenatlarında malondialdehit (MDA), nitrik oksit (NO) düzeyleri ile süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzim aktiviteleri ölçüldü. Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, sadece CCl₄ verilen sıçanların beyin ve böbrek dokusu MDA ve NO düzeylerinde artma (p<0.05), SOD ve CAT aktivitelerinde ise azalma (p<0.05) gözlemlendi. GPx aktivitesinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmedi. Öte yandan, yalnız CCl₄ verilen grupla karşılaştırıldığında, ghrel ön uygulamasının bu dokularda MDA ve NO düzeylerini önemli oranda azaltırken (p<0.05), SOD ve CAT aktivitelerini ise artırdığı tespit edildi (p<0.05). Sonuç olarak, bulgularımız ghrel ön uygulamasının sıçanlarda beyin ve böbrek dokusunda CCl₄ tarafından oluşturulan oksidatif hasarı azaltabileceğini göstermektedir.

Anahtar kelimeler: Ghrel, Karbon Tetraklorür, Oksidatif Hasar, Sıçan.

Protective Effect of Ghrelin against the Oxidative Brain and Kidney Injuries Induced by Carbon Tetrachloride in Rats

Abstract: The present study was conducted to investigate the protective effect of ghrelin pre-treatment on carbon tetrachloride (CCl₄)- induced oxidative stress in the brain and kidney tissues of rats. Fourty male Sprague-Dawley rats were divided into four equal groups, as; control, CCl₄, ghrelin and CCl₄+ ghrelin group. The rats were sacrificed 24 h after the last injection and their brain and kidneys were removed. Malondialdehyde (MDA) and nitric oxide levels (NO), and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT) and glutathione peroxidase (GPx) enzymes were measured in brain and kidney homogenates of rats. Significantly elevated (p<0.05) mean levels of MDA and NO, and lowered (p<0.05) mean activities of SOD and CAT were observed in the brain and kidney tissues of rats treated with CCl₄ only, when compared to control group. No significant change in GPx activity was observed in the brain and kidney after the CCl₄ administration. On the other hand, ghrelin pre-treatment prior to the CCl₄ administration reduced (p<0.05) the MDA and NO levels, and increased (p<0.05) the SOD and CAT activities in these tissues as compared to those in the CCl₄-treated group. In conclusion, our findings suggest that ghrelin pre-treatment would be able to alleviate the oxidative damage caused by the CCl₄ in the brain and kidney tissues of rats.

Key words: Ghrelin, Carbon Tetrachloride, Oxidative Injury, Rat.

[✉]Ebru ÇETİN

Erciyes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı, Kayseri, e-posta: ecetin@erciyes.edu.tr

* Bu çalışma; Erciyes Üniversitesi VA-06-03 No'lu BAP projesi tarafından kısmen desteklenmiştir.

GİRİŞ

Kuru temizleme, otomobil tamiri ve farmasötikal üretim gibi bazı iş alanlarında kullanılan ve vücuda solunum, sindirim ve deri yoluyla alınabilen karbon tetraklorür (CCl_4) başta karaciğer olmak üzere beyin, böbrek, kas, akciğer ve testis gibi dokulara dağılır (Abraham ve ark., 1999; Tirkey ve ark., 2005). Karbon tetraklorürün toksik etkilerinden karaciğerde biyotransformasyonu sonucu oluşan triklorometil (CCl_3) radikali sorumludur. Bu radikal daha sonra oksijen ile birleşerek triklorometil peroksil (CCl_3O_2) radikalini oluşturur. Peroksil radikali, hücrenin zar yapısını bozarak hasarın oluşmasında birincil mekanizma olarak rol oynayan güçlü bir lipid peroksidasyon başlatıcısıdır (Srinivasan ve ark., 2005). Özellikle karaciğer üzerinde hasar oluşturduğu bilinen karbon tetraklorürün yapılan deneysel çalışmalarda beyin, kalp ve böbrek gibi organlarda da oksidatif hasar oluşturduğu gösterilmiştir (Lesiuk ve ark., 2003; Karadeniz ve ark., 2007 ve 2009).

Grelın, büyüme hormonu salınımını uyaran büyüme hormonu salgılatıcı reseptör (GHS-R) için spesifik endojen bir ligand olarak izole edilmiş, 28 aminoasitli, peptid yapısında bir hormondur. Başlıca salınım yeri mide oksintik mukozasındaki A- benzeri hücrelerdir (Kojima ve ark., 1999). Bu hormonun mideden başka merkezi sinir sistemi, barsak, böbrekler, kalp, pankreas, akciğer, eşey organları ve plasenta gibi diğer organlarda da sentezlenmesi, onun birçok biyolojik aktivitede düzenleyici rol oynayan bir peptid olduğunu göstermektedir. (Aydın, 2007). Son zamanlarda yapılan çalışmalarda grelinin antioksidan özelliklere sahip olduğu bildirilmektedir. Bu bağlamda; rat ovaryumlarında lipid peroksidasyon oluşumunu azaltırken antioksidan enzimleri artırdığı (Kheradmand ve ark., 2010), kalpte doksorubusin ile oluşturulan kardiyotoksitede malondialdehit (MDA) düzeyini azaltırken süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzim düzeylerini artırdığı (Xu ve ark., 2008), beyin ve böbrek dokularında pentilen-tetrazol'ün oluşturduğu oksidatif strese karşı (Obay

ve ark., 2008) koruyucu etki gösterdiği bildirilmiştir. Bu çalışmada CCl_4 ile oluşturulan oksidatif beyin ve böbrek hasarına karşı grelinin koruyucu etkisi incelendi.

MATERYAL ve METOT

Çalışmada, ağırlıkları 280-300 g arasında değişen toplam kırk adet erkek Sprague-Dawley ırkı sıçan kullanıldı. Dört gruba ayrılan sıçanlar polikarbon kafeslerde, ortalama 22 ± 2 °C oda sıcaklığında, 12 saat aydınlık/12 saat karanlık ışık periyodu uygulanan ve düzenli olarak havalandırmanın yapıldığı bir ortamda barındırıldı. Hayvanlara su ve pelet yem ad libitum olarak verildi. Çalışma başlamadan önce CCl_4 (Merck) mısır yağı ile 1:1 oranında, grelin (Sigma) ise % 0.9'luk serum fizyolojik ile sulandırılarak kullanıma hazır hale getirildi.

Kontrol grubuna 5 gün süreyle 0.9 % NaCl deri altı yolla, CCl_4 grubuna 1.6 g/kg CCl_4 (Ohta ve ark., 2000) periton içi yolla tek doz olarak, grelin grubuna 10 ng/kg grelin (İşeri ve ark., 2008) 5 gün süreyle deri altı yolla uygulandı. Grelın+ CCl_4 grubuna ise 5 gün süreyle, günde 10 ng/kg grelinin deri altı yolla verilmesini takiben, 5. günde ayrıca 1.6 g/kg CCl_4 tek doz olarak uygulandı. Son enjeksiyondan 24 saat sonra ketamin-ksilazin anestezisi altında hayvanlar sakrifiye edildikten sonra böbrek ve beyin dokuları çıkarıldı. Çıkarılan doku örnekleri pH 7.4 fosfat tamponda (1:5), buzlu ortamda mekanik homojenizatörle (Heidolph, SilentCrusher M) homojenize edildi. Homojenatlar + 4 °C'lik soğutmalı santrifüjde (Sigma 3K-30) 20 000 devirde 1 saat santrifüj edildi. Süpernatantlar alınarak analiz zamanına kadar -80 °C'lik derin dondurucuda saklandı.

Doku supernatantlarında MDA analizleri, lipid peroksidasyonun aldehit ürünlerinden biri olan MDA ile tiyobarbitürik asit (TBA)'in reaksiyonu sonucu oluşan renkli bileşik absorbanasının 535 nm'de ölçümüne dayalı spektrofotometrik (Shimadzu UV-

1700) yöntemle belirlendi (Yoshioka ve ark., 1979). Nitrik oksit düzeyi Griess reaksiyonuna dayalı total nitrit olarak ölçüldü (Tracey ve ark., 1995). Glutatyon peroksidaz aktivitesi için Paglie ve Valentine (1967)'nin yöntemi kullanıldı. Metodun prensibi NADPH aracılığı ile glutatyon redüktaz kullanılarak indirgenmiş glutatyonun oksidasyonu esasına dayanır. Katalaz aktivitesi, ortamdaki hidrojen peroksitin katalaz tarafından yıkılmasını esasına dayanan ve hidrojen peroksitin 240 nm'de ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak belirlendi (Luck, 1955). Süperoksit dismutaz enzim aktivitesi ksantin-oksidad'ın nitroblue tetrazolium ile inhibisyonu yoluyla; inhibisyon ürünü olan formazon'un 560 nm'deki absorbanı ölçülerek belirlendi (Sun ve ark. 1988). Protein tayini Lowry ve arkadaşlarının (1951) yöntemine göre standart olarak sığır serum albümini kullanılarak saptandı.

Verilerin analizi bilgisayar istatistik paket programında (SPSS for Windows 12 Version) tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ve Tukey's çoklu karşılaştırma testleri kullanılarak yapıldı. Veriler aritmetik ortalama ve standart sapma olarak verildi. Önemlilik düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edildi.

BULGULAR

Kontrol ve deney gruplarının beyin ve böbrek dokusuna ait MDA ve NO düzeyleri ile SOD, CAT ve GPx aktiviteleri Tablo 1 ve Tablo 2'de verildi. Oksidatif stres parametrelerinden MDA ve NO düzeyleri CCl_4 verilen grubun beyin ve böbrek dokularında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak daha yüksek ($p < 0.05$) bulundu. Karbon tetraklorür verilen gruba karşılaştırıldığında grelin ön uygulaması yapılan grupta dokuların MDA ve NO düzeylerinde önemli bir azalma ($p < 0.05$) kaydedildi.

Kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, sadece CCl_4 uygulamasının beyin ve böbrek dokusu antioksidan enzimlerinden SOD ve CAT'ın aktivitesini azaltırken ($p < 0.05$), GPx enziminde ise istatistiksel

olarak önemli bir değişikliğe neden olmadığı ($p > 0.05$) tespit edildi. Öte yandan, grelin+ CCl_4 grubunda, beyin ve böbrek dokusu SOD ve CAT aktivitelerinin CCl_4 grubuna göre anlamlı olarak arttığı ($p < 0.05$) belirlendi.

TARTIŞMA ve SONUÇ

Biyolojik sistemlerde serbest radikal oluşumu normal metabolik faaliyetler sırasında oluşabileceği gibi diyet ve çevresel etkiler ile ilaç ve diğer ksenobiyotiklere bağlı olarak da oluşabilir. Serbest radikaller vücutta antioksidan savunma kapasitesini aştıkları zaman çeşitli bozukluklara yol açarlar. Lipid peroksidasyon, serbest radikaller tarafından başlatılan ve hücre membranındaki çoklu doymamış yağ asitlerinin oksidasyonuna yol açan bir reaksiyondur. Üç veya daha fazla çift bağ içeren yağ asitlerinin peroksidasyonu sonucunda MDA oluşur ki bu lipid peroksidasyonun en önemli göstergelerinden biridir (Freeman ve Crapo, 1982; Del Rio ve ark., 1995). Çalışmada CCl_4 'ün beyin ve böbrek dokusunda MDA düzeyini artırdığı gözlemlendi. MDA düzeyindeki artma CCl_4 uygulamasına bağlı olarak serbest oksijen radikallerinin arttığını göstermektedir. Benzer şekilde, CCl_4 verilen sıçanların beyin ve böbrek dokularında MDA düzeyinin yükseldiği bildirilmiştir (Tirkey ve ark., 2005; Karadeniz ve ark., 2007 ve 2009; Jayakumar ve ark., 2008). Öte yandan, CCl_4 'den önce uygulanan grelinin MDA düzeyini düşürdüğü tespit edildi. Bu durum, grelinin antioksidan etkisiyle ilişkili olabilir. Son yıllarda yapılan çalışmalardan elde edilen sonuçlar bulgularımızı destekler niteliktedir. Bu bağlamda; Obay ve ark. (2008), beyin ve böbrek dokularında pentilentetrazol tarafından oluşturulan lipid peroksidasyonuna karşı grelinin koruyucu etki gösterdiğini bildirmişlerdir. İşeri ve ark. (2008), sıçanlarda alendronat ile oluşturulan mide doku hasarına karşı grelin uygulamasının MDA düzeyini azalttığını göstermişlerdir.

Tablo 1. Kontrol ve deney gruplarının beyin dokusunda MDA ve NO düzeyleri ile SOD, CAT ve GPx aktiviteleri**Table 1.** The MDA and NO levels as well as CAT, SOD and GPx activities in brain tissue in control and experimental groups

Gruplar	MDA (nmol/mg-protein)	NO (nmol/mg-protein)	SOD (U/mg-protein)	CAT (k/mg-protein)	GPx (U/mg-protein)
Kontrol	1.27± 0.51	2.23± 1.27	1.49± 0.18	20.11± 0.48	17.18± 1.68
Grelin	1.09± 0.68	2.01± 1.59	1.22± 0.22	21.50± 1.13	16.20± 2.14
CCl ₄	2.17± 0.45 ^a	3.45± 1.36 ^a	0.73± 0.12 ^a	10.72± 0.71 ^a	13.16± 2.53
Grelin + CCl ₄	1.54± 0.98 ^b	2.70± 1.19 ^b	1.36± 0.38 ^b	17.28± 1.80 ^b	15.90± 1.89

^aKontrol ve ^bCCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Tablo 2. Kontrol ve deney gruplarının böbrek dokusunda MDA ve NO düzeyleri ile SOD, CAT ve GPx aktiviteleri**Table 2.** The MDA and NO levels as well as CAT, SOD and GPx activities in kidney tissue in control and experimental groups

Gruplar	MDA (nmol/mg-protein)	NO (nmol/mg-protein)	SOD (U/mg-protein)	CAT (k/mg-protein)	GPx (U/mg-protein)
Kontrol	0.61± 0.51	3.13± 1.07	2.99± 0.15	35.31± 1.08	29.18± 1.68
Grelin	0.79± 0.31	3.21± 1.29	2.62± 0.12	29.50± 1.13	31.20± 1.14
CCl ₄	1.81± 0.75 ^a	5.41± 1.16 ^a	1.13± 0.15 ^a	19.72± 1.71 ^a	28.16± 1.53
Grelin + CCl ₄	1.21± 1.88 ^b	4.08± 1.14 ^b	2.26± 0.10 ^b	27.28± 1.80 ^b	25.90± 2.89

^aKontrol ve ^bCCl₄ grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemlidir (p<0.05)

Nitrik oksit eşleşmemiş tek elektron içeren bir serbest radikaldir. Fizyolojik yoğunluklarda, nitrik oksit sentaz (iNOS) aracılığı ile endotel hücrelerinden salınır ve normalde toksik değildir. Nitrik oksit süperoksit anyon radikali ile reaksiyona girerek dokular için son derece zararlı olan peroksinitriti oluşturmaktadır. Oluşan bu madde hücre membranında lipid peroksidasyonu başlatarak hücre hasarına neden olmaktadır (Tamer ve ark., 2000; Kılınç ve Kılınç, 2003). Çalışmada CCl₄ verildikten sonra beyin ve böbrek dokularında NO düzeyinde gözlenen artma Karadeniz ve ark. (2007 ve 2009)'nın bulgularıyla uyum içindedir. Benzer şekilde, Srinavasan ve ark. (2005) CCl₄ alan sıçanların NO düzeylerinde önemli bir artma tespit etmişlerdir. CCl₄ uygulanmasından sonra dokuların NO düzeylerinde gözlenen önemli artış, oluşan serbest radikallerin hücre lipid membranlarını peroksidasyona uğrattığının bir göstergesi olarak değerlendirilebilir. Araştırmada, sadece CCl₄ verilen grupla karşılaştırıldığında, CCl₄'den önce grelin ön uygulmasının CCl₄'ün neden olduğu NO düzeyindeki artışı azalttığı tespit edildi. Nitrik oksit düzeyindeki bu azalma

grelin tarafından iNOS mRNA ekspresyonunun azaltılmasına bağlanabilir (Sibilia ve ark., 2003).

Canlı dokularda serbest radikallere karşı savunma sisteminde öncelikle enzim sistemi etkili olmaktadır. Süperoksit dismutaz, GPx ve CAT enzimleri serbest radikallerin birikimini ve lipid peroksidasyonun başlamasını önleyen bileşiklerdir. Süperoksit dismutaz, süperoksidin hidrojen perokside dönüşümünü katalizlerken, CAT ve GPx ise SOD tarafından oluşturulan hidrojen peroksidi (H₂O₂) dokulardan uzaklaştıran reaksiyonlarda görev alırlar (Halliwell ve Gutteridge, 1989; Dündar ve Aslan, 2000). Bu enzimlerin aktivitesindeki azalma, hücre membranının bütünlüğünü ve fonksiyonunu bozan serbest radikal miktarındaki artmayla ilişkilidir (Freeman ve Crapo, 1982). Araştırmada, sadece CCl₄ verilen grubun beyin ve böbrek dokularında SOD ve CAT aktivitelerinin kontrol grubuna göre önemli düzeyde azalması CCl₄'ün bu dokularda H₂O₂ ve peroksinitrit oluşumunu tetiklediğini ve enzimlerin bu reaktiflerin ortamdaki uzaklaştırılması sırasında azaldığını göstermektedir. Karbon tetraklorür'ün beyin ve böbreklerde antioksidan enzimler üzerine

etkisi üzerine yapılan çalışmalarda sıçanlara verilen CCl_4 'ün beyin ve böbrek dokusunda bulgularımızla uyumlu olarak SOD ve CAT aktivitesinde önemli bir azalma kaydedilmiştir (Lesiuk ve ark., 2003; Tirkey ve ark., 2005; Karadeniz ve ark., 2007 ve 2009 Jayakumar ve ark., 2008). Benzer şekilde CCl_4 verilen sıçanların böbreklerinde gözlenen SOD ve CAT aktivitesindeki azalma (Srinivasan ve ark., 2005) bulgularımızla örtüşmektedir. Çalışmada beyin ve böbrek dokularının GPx aktivitelerinde istatistiksel olarak önemli bir değişiklik gözlenmedi. CCl_4 uygulamasının GPx aktivitesi üzerine etkileri konusunda yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar elde edilmiştir. CCl_4 uygulanmasının beyin ve böbrek dokusunda GPx aktivitesini azalttığını bildiren çalışmaların (Jayakumar ve ark., 2008) yanı sıra beyin dokusunda GPx aktivitesini artırdığını (Lesiuk ve ark., 2003; Karadeniz ve ark., 2007) bildiren çalışmalar da mevcuttur. Bu farklılık CCl_4 'ün uygulama şekli veya dozuyla ilişkili olabilir.

Çalışmada elde edilen veriler grelin ön uygulamasının etkisi açısından incelendiğinde; sadece CCl_4 verilen grupla karşılaştırıldığında, grelin+ CCl_4 uygulaması yapılan grubun beyin ve böbrek dokularında SOD ve CAT aktivitelerinde önemli oranda bir artışın kaydedilmesi grelinin bu dokularda enzimatik antioksidan savunma sistemini artırdığını göstermektedir. Grelinin antioksidan özelliği ile ilgili olarak, grelinin preadipozit hücre kültürlerinde SOD, CAT ve GPx aktivitelerini (Zwirski-Korcale ve ark., 2007), sıçan ovaryumlarında SOD aktivitesini (Kheradman ve ark., 2010), kalpte doksorubusin ile oluşturulan kardiyotoksistide SOD ve CAT aktivitesini (Xu ve ark., 2008), pentilen tetrazol ile oluşturulan oksidatif streste beyinde SOD aktivitesini (Obay ve ark., 2008), metilfenilpridinyum ile oluşturulan nörotoksistite modelinde ise SOD ve CAT aktivitelerini artırdığı yönündeki veriler bulgularımızı desteklemektedir. Grelinin antioksidan özelliği Nrf2 transkripsiyon faktörünü aktive etmesinden kaynaklanabilir. Nrf2, antioksidan enzim genlerinin ekspresyonunu düzenleyen bir faktördür (Jung ve Kwak, 2010)

ve yapılan deneysel çalışmalarda karaciğer ve akciğer gibi çeşitli dokularda oksidatif hasarlara karşı antioksidan genleri düzenleyici etkisi gösterilmiştir (Chan ve ark., 2001).

Sonuç olarak, beyin ve böbrek dokularında CCl_4 tarafından oluşturulan oksidatif strese karşı grelinin antioksidan savunma mekanizmasını uyararak koruyucu etki gösterdiği tespit edilmiştir.

KAYNAKLAR

- Abraham P., Wilfred G., Cathrine SP., 1999. Oxidative damage to the lipids and proteins of the lungs, testis and kidney of rats during carbon tetrachloride intoxication. *Clin. Chim. Acta.*, 289, 177-179.
- Aydın S., 2007. Grelinin hormonunun keşfi: Araştırmaları ve klinik uygulamaları. *Derleme. Turk. J. Biochem.*, 32, 76-89.
- Chan K., Han XD., Kan YW., 2001. An important function of Nrf2 in combating oxidative stress: detoxification of acetaminophen. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 98, 4611-4616.
- Del Rio D., Stewart AJ., Pellegrini N., 2005. A review of recent studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*, 15, 316-328.
- Dundar Y., Aslan R., 2000. Hekimlikte oksidatif stress ve antioksidanlar. *Afyon Kocatepe Üniv. Yayınları*, Y.N: 29, Uyum Ajans, Ankara.
- Freeman BA., Crapo JD., 1982. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Lab. Invest.*, 47, 412-426.
- Halliwell B., Gutteridge, JMC., 1989. Free radicals in biology and medicine. Clarendon Press, Oxford.
- Işeri SO., Sener G., Sağlam B., Ercan F., Gedik N., Yegen BC., 2008. Ghrelin alleviates biliary obstruction induced chronic hepatic injury in rats. *Regul. Pept.*, 146, 73-79.
- Jayakumar T, Sakthivel M, Thomas PA, Geraldine P., 2008. Pleurotus ostreatus, an oyster mushroom, decreases the oxidative stress induced by carbon tetrachloride in rat kidneys, heart and brain. *Chem. Biol. Interact.*, 176, 108-120.

- Jung K., Kwak M., 2010. The Nrf2 system as a potential target for the development of indirect antioxidants. *Molecules*, 15, 7266-7291.
- Karadeniz A., Yıldırım A., Çelebi F., 2007. Protective effect of Panax ginseng against carbon tetrachloride (CCl₄)-induced oxidative brain injury in rats. *Atatürk Üniversitesi Vet. Bil. Derg.*, 2, 117-121.
- Karadeniz A., Yıldırım A., Karakoç A., Kalkan Y., Çelebi F., 2009. Protective effect of Panax ginseng on carbon tetrachloride induced liver, heart and kidney injury in rats. *Revue Med. Vet.*, 160, 237-243.
- Kılınc A., Kılınc K., 2003. Nitrik oksit, biyolojik fonksiyonları ve toksik etkileri, Palme Yayıncılık, Ankara.
- Kheradmand A., Alirezaei M., Birjandi M., 2010. Ghrelin promotes antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in the rat ovary. *Regul Pept.*, 162, 84-89.
- Kojima M., Hosoda H., Date Y., 1999. Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach. *Nature*, 402, 656-660.
- Lesiuk SS., Czechowska G., Stryjecka-Zimmer M., Słomka M., Madro A., Celinski K., Wielosz M., 2003. Catalase, superoxide dismutase, and glutathione peroxidase activities in various rat tissues after carbon tetrachloride intoxication, *J. Hepatobiliary Pancreat. Surg.*, 10, 309-315.
- Lowry OH., Rosebrough NJ., Farr AL., Randall RJ., 1951. Protein measurement with Foline phenol reagent. *J. Biol. Chem.*, 193, 265-275.
- Luck H., 1955. Catalase. In: *Methods of Enzymatic Analysis*. Ed. HU Bergmeyer, Academy Press, New York.
- Obay BD., Tasdemir E., Tümer C., Bilgin HM., Atmaca M., 2008. Dose dependent effects of ghrelin on pentylene tetrazole induced oxidative stress in a rat seizure model. *Peptides*, 29, 448-455.
- Ohta Y., Kongo M., Sasaki E., Nishida K., Ishiguro I., 2000. Therapeutic effect of melatonin on carbon tetrachloride-induced acute liver injury in rats. *J. Pineal Res.*, 2, 119-126.
- Paglie DE., Valentine WN., 1967. Studies on the qualitative and quantitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Med.*, 70, 158-169.
- Sibilia V., Rindi G., Pagani F., Rapetti D., Locatelli V., Torsello A., Campanini N., Deghenghi R., Netti C., 2003. Ghrelin protects against ethanol-induced gastric ulcers in rats: studies on the mechanisms of action. *Endocrinology*, 144, 353-359.
- Srinivasan M., Rukkumani A., Sudheer R., Menon VP., 2005. Ferulic acid, a natural protector against carbon tetrachloride induced toxicity. *Fundament. Clin. Pharmacol.*, 19, 491-496.
- Sun Y., Oberley LW., Li YAA., 1988. Simple for clinical assay of superoxide dismutase. *Clin. Chem.*, 34, 497-500.
- Tirkey N., Pilkhwal S., Kuhad A., Chopra K., 2005. Hesperidin, a citrus bioflavonoid, decreases the oxidative stress produced by carbontetrachloride in rat liver and kidney. *BMC Pharmacol.*, 5, 2.
- Tamer I., Polat G., Eskandari G., Ercan B., Atik U., 2000. Serbest Radikaller, Mersin Üniv. Tıp Fak. Derg., 1, 52-58.
- Tracey WR., Tse J., Carter G., 1995. Lipopolysaccharide-induced changes in plasma nitrite and nitrate concentrations in rats and mice: pharmacological evaluation of nitric oxide synthase inhibitors, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, 272, 1011-1015.
- Xu Z., Lin S., Wu W., Tan H., Wang Z., Cheng C., Lu L., Zhang X., 2008. Ghrelin prevents doxorubicin induced cardiotoxicity through TNF-alpha/NF-kB pathways and mitochondrial protective mechanisms. *Toxicology*, 247, 133-138.
- Yoshioka T., Kawada K., Shimada T., 1979. Lipid peroxidation in maternal and cord blood and protective mechanism against activated-oxygen toxicity in the blood. *Am. J. Obstet. Gynecol.*, 135, 372-376.
- Zwirska-Korczała K., Adamczyk-Sowa M., Sowa P., Pilc K., Suchanek R., Pierzchala K., Namysłowski G., Misiolek M., Sadowski K., Kato I., Kuwahara A., Zabielski R., 2007. Role of leptin, ghrelin, angiotensin II and orexins in 3T3 L1 preadipocyte cells proliferation and oxidative metabolism. *J. Physiol. Pharmacol.*, 58, 53-64.